

нуклеотидная замена в гене *atpA*. Сорты Заречье (37 модификаций) и Благо 16 различаются между собой четырьмя модификациями хп-ДНК, которые касаются гена *atpA* и генов, кодирующих неохарактеризованные белки. При сравнении сортов Ковчег (29 модификаций) и Благо 16, имеющих идентичные изменения в гене *atpA*, обнаруживаются 11 различий, связанных преимущественно с геном *ndhB*.

Что касается яровых сортов, то, как уже отмечалось выше, Матейко и Садко идентичны по структуре хп-генома. Сорт Узор (38 модификаций хп-ДНК) отличается от них по 14 позициям, из которых 6 приходится на ген *atpA*, а сорт Лана (46 модификаций) - лишь по 6, причем 5 из них касаются этого же гена.

Учитывая имеющиеся в литературе примеры, свидетельствующие о существенной роли внутривидовой изменчивости цитоплазмы в адаптивной дифференциации растительных популяций [3-4], мы ожидали обнаружить различия в структуре пластома между тритикале ярового и озимого типов развития, однако этого не произошло. Из выявленных в общей сложности 52 модификаций хп-ДНК у яровых форм не отмечены лишь индивидуальные для озимого сорта Динамо полиморфизмы, однако они не выявлены и у других озимых сортов. Остальные модификации в равной мере были характерны для обоих типов сортов.

**Выводы.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют о низком уровне межсортовой изменчивости хп-генома у культивируемых в Республике Беларусь сортов тритикале, что находится в соответствии с литературными данными, согласно которым в процессе одомашнивания и последующей селекции культурных растений произошло существенное снижение уровня полиморфизма не только ядерных, но и оргanelльных геномов [5-6]. Из этого следует, что искать источник дополнительного генетического разнообразия среди оргanelльных геномов сортового материала не имеет смысла. Как и в случае с ядерным геномом для расширения изменчивости пластома с целью дальнейшего использования этой изменчивости для разработки новых селекционных стратегий следует использовать генпул диких сородичей культурных растений.

#### Список литературы

1. Геномы оргanelл клетки и их роль в эволюции и селекции растений / О.Г. Давыденко [и др.] // Генетические основы селекции растений - Нац. Акад. Наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии. - 2-е изд. - Минск : Беларуская наука, 2018. - Т. 1 - Гл.7. - С. 316-356.
2. Budar, F. The role of organelle genomes in plant adaptation Time to get to work! / F. Budar, F. Roux // Plant Signaling & Behavior. - 2011. - Vol. 6, № 5. - P. 635-639.
3. Galloway, L.F. Nuclear and cytoplasmic contributions to intraspecific divergence in an annual legume / L.F. Galloway, C.B. Fenster // Evolution. - 2001. - Vol. 55. - P. 488-497.
4. Leinonen, P.H. Local adaptation, phenotypic differentiation and hybrid fitness in diverged natural populations of *Arabidopsis lyrata* / P.H. Leinonen, D.L. Remington, O. Savolainen // Evolution. - 2010. - Vol. 65- P. 90-107.
5. Polymorphic chloroplast simple sequence repeat primers for systematic and population studies in the genus *Hordeum* / J. Provan [et al.] // Molecular Ecology. - 1999. - Vol. 8.- P. 505-511.
6. An extreme cytoplasmic bottleneck in the modern European cultivated potato (*Solanum tuberosum*) is not reflected in decreased levels of nuclear diversity / J. Provan [et al.] // Genetics. - 1999. - Vol. 266. - P. 633-639.

УДК 577.21:633.111.1

#### ДНК-ТИПИРОВАНИЕ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ПО ГЕНАМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ЗИМОСТОЙКОСТЬЮ

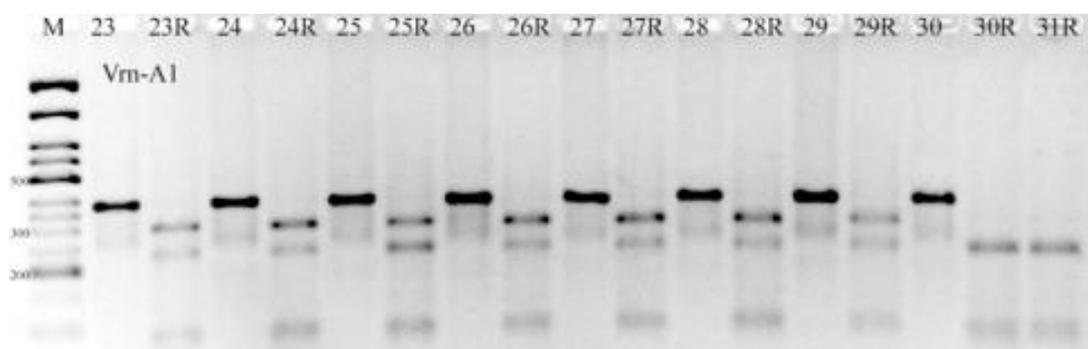
**Шимко В.Е.<sup>1</sup>, Матиевская О.С.<sup>1</sup>, Бондаревич Е.Б.<sup>1</sup>, Гордей С.И.<sup>2</sup>, Дубовец Н.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ГНУ «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> РУП «Научно-практический центр НАНБ по земледелию» Минск, Республика Беларусь

**Ключевые слова:** озимая пшеница, зимостойкость, аллельный состав генов, молекулярные маркеры

**Введение:** В настоящее время в селекции сельскохозяйственных культур, в том числе мягкой пшеницы, особое внимание уделяется созданию сортов, способных противостоять воздействию абиотических стрессов. По имеющимся данным вариабельность урожайности по годам на 60-80% обусловлена погодными условиями [1, 2]. При этом выживание в зимний



период (зимостойкость) является важной характеристикой для сортов озимой

пшеницы и одним из главных факторов адаптивности, который определяет степень реализации потенциала продуктивности данной культуры [3]. Изучению вопросов вымерзания растений и приемов повышения их зимостойкости посвящено большое количество работ. Показано, что проявление зимо- и морозостойкости находится в зависимости от физиологических, агротехнических, климатических условий, а также от генетических особенностей сорта [4]. Комплексная природа и сложный генетический контроль признака, а также его подверженность сильному влиянию условий среды существенно затрудняют селекцию на зимостойкость с использованием традиционных подходов. Повысить эффективность селекционной работы в этом направлении можно за счет применения современных методов ДНК-маркирования. На сегодняшний день разработан ряд ДНК-маркеров к локусам, ассоциированным с зимо- и морозостойкостью, которые могут быть использованы в маркер-сопутствующей селекции [5-7]. Их применение позволяет быстро и надежно идентифицировать образцы, несущие целевые гены, причем это можно сделать уже на первых этапах селекционного процесса, что существенно повышает его эффективность.

**Цель работы:** Провести ДНК-типирование перспективного селекционного материала озимой мягкой пшеницы по генам, ассоциированным с зимостойкостью.

**Материалы и методы:** Материалом для исследований послужила коллекция из 53 генотипов озимой мягкой пшеницы, сформированная коллегами из НПЦ НАН Беларуси по земледелию на основе анализа перезимовки растений в полевых условиях. Для идентификации аллельного статуса локуса *VRN1* использовали маркер *VRN-A1* и эндонуклеазу *MboI* [8]. Анализ локуса *Fr-A2* проводился с помощью маркеров *CAPS-A12* и *CAPS-A15* [9]. Для идентификации в данном локусе гаплотипов «*FR-A2-S*» и «*FR-A2-T*», различающихся по толерантности к холоду, использовали эндонуклеазы *AatII* и *SalI*.

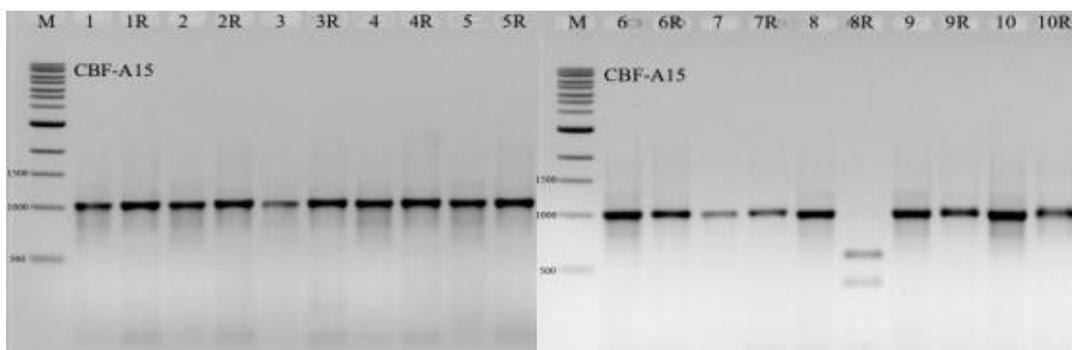
**Результаты:** В настоящее время установлены два основных универсальных QTL морозостойкости: *Fr-1* и *Fr-2*, расположенные на длинных плечах хромосом 5-ой гомеологической группы пшеницы. Локус *Fr-1* физически и генетически картирован, однако до сих пор не ясно, является ли *Fr-1* независимым геном или влияние локуса на морозостойкость растений обусловлено плейотропным эффектом гена *Vrn-1*. Большинство исследователей склоняются к последней версии, поэтому сейчас QTL *Fr-1* обозначают как *Vrn-1*. *Vrn-1* регулирует переход между вегетативной и репродуктивной стадиями, а локус *Fr-2*, включающий несколько tandemно дублированных факторов транскрипции *CBF* (C-repeat binding factor), регулирует экспрессию генов толерантности к холоду.

Известно, что разные аллели генов *Vrn-1* характеризуются различным эффектом на яровизацию. Доминантный аллель *Vrn-A1a* определяет яровые генотипы без необходимости в яровизации, в то время как доминантные аллели *Vrn-B1a* и *Vrn-D1a* слабее. Рецессивные аллели гена *Vrn-A1* (*vrn-A1*) присутствуют у озимых форм, более устойчивых к заморозкам, причем наибольшей устойчивостью к низким температурам характеризуются носители аллеля *Vrn-A1w*. Наличие данного аллеля было обнаружено у подавляющего большинства генотипов за исключением двух селекционных образцов №№ 664/20-17 и 668/37-17 (рисунок 1).

М – маркер молекулярного веса Праймтех™, М1000bp, 23 – 30 образцы пшеницы, 23R – 31R – те же образцы пшеницы с рестрикцией

Рисунок 1 – Электрофореграмма разделения продуктов ПЦР с маркером *Vrn-A1* и последующего расщепления продуктов ПЦР рестриктазой *MboI* у образцов мягкой пшеницы

Локус *Fr-A2*, локализованный в длинном плече хромосомы 5A пшеницы, несет кластер не менее, чем из 11 генов *CBF* (C-repeat binding factor), три из которых (*CBF-A12*, *CBF-A14* и *CBF-A15*), расположенные в центральной части локуса *Fr-A2*, играют критическую роль в устойчивости к морозу [8, 9]. При этом наиболее вероятной причиной изменчивости признака является вариация числа копий данных генов. В результате сравнительного анализа чувствительных и устойчивых к холоду генотипов пшеницы в данном локусе были выявлены два гаплотипа FR-A2-S и FR-A2-T, для идентификации которых на основе SNP, обнаруженных при секвенировании генов *CBF-A12* и *CBF-A15*, были разработаны маркеры CAPS-A12 и CAPS-A15 [8]. В результате проведенного анализа 55 генотипов мягкой пшеницы (53 образца из рабочей коллекции + два контрольных сорта с известными гаплотипами) с использованием маркера CAPS-A12 продукт амплификации ожидаемого размера был выявлен у подавляющего большинства генотипов, за исключением трех селекционных образцов (селекционные номера 1193-4-1, 64/10-17 и 246/15-17) и сорта Мроя. Отсутствие у этих генотипов пшеницы ожидаемого продукта может быть следствием делеции части генетического материала в *Fr-A2*-локусе. Для идентификации гаплотипов полученный продукт амплификации был подвергнут обработке эндонуклеазой *AatII*. Образование в результате такой обработки трех фрагментов размером 400/304/476 п.н. свидетельствует о наличии толерантного к холоду гаплотипа FR-A2-T, который был обнаружен у большинства (42 из 53) исследованных генотипов. При использовании маркера CAPS-A15 размер получаемого в ходе ПЦР продукта амплификации должен составить 1017 п.н. Продукт такого размера выявлен у всех исследованных образцов. Для идентификации гаплотипов данный продукт был подвергнут обработке эндонуклеазой *SalI*. У подавляющего большинства исследованных образцов (за исключением die 60406/2) амплифицированный фрагмент не подвергся рестрикции, что соответствует наличию у этих генотипов гаплотипа FR-A2-T, ассоциированного с повышенной морозостойкостью растений (рисунок 2).



М – маркер молекулярного веса Biolabs, М10000bp, 1 – 10 образцы пшеницы; 1R – 10R – образцы пшеницы с рестрикцией: 1R – Доминика, 2R – Мроя, 3R – Асима, 4R – Варя, 5R –

Щара х STH 254, 6R – Узлет х (Прэстыж х STH 735), 7R – МрояW, 8R – die 60406/2, 9R – Натуля х Сюита, 10R – Натуля х Ода

Рисунок 2 – Электрофореграммы разделения продуктов ПЦР с праймером CBF-A15 и последующего расщепления продуктов ПЦР рестриктазой SalI у мягкой пшеницы

**Выводы:** С учетом всех проведенных молекулярных исследований локусов *Fr-1(VRN1)* и *Fr-A2*, ассоциированных с зимо- и морозостойкостью пшеницы, из коллекции выделено 39 генотипов, содержащих сопряженные с толерантностью к холоду аллельные варианты генов, что позволит использовать данные образцы в селекционном процессе на зимостойкость.

#### Список литературы.

1. Грабовец, А.И. Создание и внедрение сортов пшеницы и тритикале с широкой экологической адаптацией / А.И. Грабовец, М.А. Фоменко // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2013. – №2(6). – С. 41-47.
2. Корзун, А.С. Адаптивные особенности селекции семеноводства сельскохозяйственных растений: учебное пособие / О.С. Корзун, А.С. Бруйло. – Гродно: ГГАУ, 2011. – 140 с.
3. Болдырев, М.И. Действие стрессовых факторов на растения / М.И. Болдырев, Н.Я. Коширская // Защита растений и карантин. – 2008. – №4. – С.14-15.
4. Удовенко, Г.В. Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая с.-х. растений/ Г.В. Удовенко, Э.А. Гончарова. – Л.: Гидрометиздат, 1982. – 144 с.
5. [Yan L](#), [Helguera M](#), [Kato K](#), [Fukuyama S](#), [Sherman J](#), [Dubcovsk J y](#) Allelic variation at the VRN-1 promoter region in polyploid wheat / L. Yan [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2004. – Vol. 109. – P. 1677-1686.
6. [Chen Yihua](#), [Carver Brett F](#), [Wang Shuwen](#), [Zhang Fengqiu](#), [Yan Liuling](#) Genetic loci associated with stem elongation and winter dormancy release in wheat / Y. Chen [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2009. – Vol. 118, № 5. –P. 881-889.
7. Chu C.G., Tan C.T., Yu G.T., Zhong S., Xu S.S., Yan L. A Novel Retrotransposon Inserted in the Dominant Vrn-B1 Allele Confers Spring Growth Habit in Tetraploid Wheat (*Triticum turgidum* L.) // G3 (Bethesda). 2011 Dec;1(7):637-45. doi: 10.1534/g3.111.001131.
8. Zhu J, Pearce S, Burke A, See D, Skinner D, Dubcovsky J, Garland-Campbell K. Copy number and haplotype variation at the VRN-A1 and central FR-A2 loci are associated with frost tolerance in hexaploid wheat // Theor Appl Genet. 2014;127:1183–97.
9. Pearce S., Zhu J., Boldizsár Á., Vágújfalvi A., Burke A., Garland-Campbell K., Galiba G., Dubcovsky J. Large deletions in the CBF gene cluster at the Fr-B2 locus are associated with reduced frost tolerance in wheat // Theor Appl Genet. 2013 Nov;126(11):2683-97. doi: 10.1007/s00122-013-2165-y.

УДК:633.511.575.113

#### ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВНУТРИВИДОВЫХ ГИБРИДОВ F1 ХЛОПЧАТНИКА

*Эрназарова Дилрабо Кушбаковна, Ньматуллаева Эъзозахон Фахриддиновна*

Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз, Ташкент,  
111208, Кибрайский р-н, п-к Юкори-Юз

**Аннотация.** В статье проведен цитогенетический анализ гибридов первого поколения, полученных при внутривидовом скрещивании тетраплоидного вида хлопчатника (*G.hirsutum* L.), который включал анализ тетрад и оценку фертильности пыльцы после окраски ацетокармином.

**Ключевые слова:** хлопчатник, *G. hirsutum* L., гибрид, спорад, пыльца.